

ENSAYO EN INVERNADERO SOBRE LA ACCIÓN PARASITARIA DE *Spalangia cameroni* (HYMENOPTERA: PTEROMALIDAE) FRENTE A PUPAS ENTERRADAS DE *Ceratitis capitata* (DIPTERA: TEPHRITIDAE)

¹ Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Centro de Protección Vegetal y Biotecnología. Ctra. Montcada a Náquera, km. 4.5 46113-Montcada, Valencia. e-mail: beitia_fra@gva.es

² Área de Zoología. Facultad de Biología. Universidad de Salamanca. 37071 Salamanca.

RESUMEN

El himenóptero pteromárido *Spalangia cameroni* Perkins es un parasitoide generalista de diversas familias de dípteros, entre ellas la familia Tephritidae, es decir las moscas de las frutas. Se trata de un parasitoide idiobionte que ataca a las pupas de los dípteros. Ha sido citado sobre diversas especies de interés económico, como *Anastrepha suspensa*, *Bactrocera cucurbitae* y *B. passiflorae*; no obstante, nunca se había citado parasitando pupas de *Ceratitis capitata* (Wiedemann), la mosca mediterránea de la fruta, hasta su detección sobre esta especie de tefrítido en un trabajo desarrollado por el equipo de entomología del IVIA y referido a la Comunidad Valenciana.

Desde entonces, se está estudiando su capacidad parasitaria, para determinar su interés como un potencial agente de control biológico de la plaga. En este trabajo se exponen los resultados de un ensayo realizado en invernadero, en el que se ha estudiado la capacidad parasitaria de *S. cameroni* sobre pupas de *C. capitata* enterradas en el suelo.

INTRODUCCIÓN

En el Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA), el equipo de Entomología viene trabajando, desde hace unos 10 años, sobre la viabilidad de uso de diferentes especies de himenópteros parasitoides para el control poblacional de la mosca mediterránea de la fruta, *Ceratitis capitata*. Como es bien sabido, se trata de una plaga que es de máxima importancia en el cultivo de cítricos y de otros frutales de la Comunidad Valenciana, como son melocotón, albaricoque y caqui, entre otros.

Cuando se inició esta investigación, centrada en el control biológico de la plaga, se diseñaron dos líneas de trabajo: la importación de especies de parasitoides exóticos, con reconocida actividad sobre la plaga o, al menos, sobre otras especies de tefrítidos, y la búsqueda de parasitoides autóctonos o naturalizados, cuya existencia y potencial eficacia

eran desconocidas (Beitia *et al.*, 2006).

En relación a la segunda línea de investigación, hasta el momento se han encontrado 3 especies de himenópteros parasitoides: un figítido parasitoide de larvas, *Aganaspis daci* (Weld), y dos pteromáridos parasitoides de pupas, *Spalangia cameroni* Perkins y *Pachycrepoideus vindemmiae* (Rondani) (Falcó *et al.*, 2006; Beitia *et al.*, 2007; de Pedro *et al.*, 2013). En la actualidad, en el IVIA nos estamos centrando en el estudio del parasitoide larvario mencionado, al igual que en el de otro parasitoide larvario, pero éste importado desde México, *Diachasmimorpha longicaudata* (Beitia *et al.*, 2014). Ambas especies son parasitoides reconocidos como específicos de tefrítidos y esta característica los hace, en principio, más

prometedores como agentes de control biológico de la mosca que los dos pteromáridos, que son parasitoides generalistas de dípteros y cuya acción sobre *C. capitata* podría ser menos importante.

No obstante, se ha comprobado que ambas especies poseen una elevada capacidad de parasitación de las pupas de mosca, en condiciones de laboratorio. Por ello, se mantiene su cría controlada y se siguen realizando algunos ensayos para llegar a conocer su real potencial como agentes de control.

En el caso concreto de *S. cameroni* (Figuras 1 y 2, pag. 220), desde su detección en campo parasitando a pupas de *C. capitata* (Falcó *et al.*, 2006; Tormos *et al.*, 2012), se han realizado ensayos de laboratorio

para mejorar su sistema de cría (Beitia *et al.*, 2010; Tormos *et al.*, 2010; Tormos *et al.*, 2014), conocer su capacidad parasitaria (Pérez-Hinarejos y Beitia, 2008) y la incidencia que tiene el superparasitoidismo que genera esta especie en su desarrollo poblacional (Böckman *et al.*, 2012; Tormos *et al.*, 2012). Pero estos trabajos se han realizado siempre en laboratorio, con unas condiciones climáticas constantes y, principalmente, un ofrecimiento directo de las pupas de mosca a las hembras del parasitoide, en placa Petri (Figura 3, pag. 220); si bien ya se ha realizado también algún estudio sobre la parasitación de pupas enterradas de *C. capitata* por parte de *S. cameroni*, en experimentos en laboratorio (Pérez-Hinarejos y Beitia, 2008).

Por ello, pareció conveniente desarrollar un ensayo que se acercara más a la situación real que puede encontrar el parasitoide en campo, al enfrentarse a una población de *C. capitata* cuyas pupas estuvieran enterradas en el suelo. Para ello, se diseñó un ensayo en invernadero, con condiciones de temperatura y humedad relativa variables a lo largo del día, y con un fotoperiodo natural.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los insectos utilizados procedían de las crías de laboratorio de ambas especies, *C. capitata* y *S. cameroni*, que se mantienen en el Departamento de Entomología del IVIA.

Previamente al ensayo mismo en invernadero, se procedió a realizar una prueba en laboratorio, en cámara climática SANYO (Figura 4, pag. 220), para reafirmar la acción parasitaria de *S. cameroni* al encontrarse con pupas enterradas de la mosca. Para ello, se trabajó a una temperatura de 25 ± 0.5 °C, $60 \pm 5\%$ de humedad relativa y fotoperiodo de 16:8 (L:O), condiciones consideradas óptimas para este parasitoide (Pérez-Hinarejos y Beitia, 2008).

Se colocaban 20 pupas de *C. capitata* en una base de placa Petri y se cubrían con turba, para simular el enterramiento natural a unos 3-4 cm de la superficie del suelo (Figura 3). Esta placa se colocaba en un recipiente de plástico con cierre hermético, en el cual se introducía una pareja de parasitoides, junto con suministro de agua y miel para alimentación. Se dejaba durante 4 días, para posteriormente retirar los adultos, recuperar las pupas y dejar que evolucionarán para evaluar la emergencia de hospedadores y de parasitoides, determinando así la acción parasitaria de la hembra sobre pupas enterradas. Se realizó un total de 10 repeticiones (10 parejas del parasitoide).

El ensayo de invernadero se desarrolló en las instalaciones del IVIA, en un invernadero de cristal que cuenta con 4 cabinas independientes (Figura 5, pag. 220). Se utilizó una de ellas, en la cual se tienen 4 jaulones de aluminio y muselina, en cuyo interior se procedió al desarrollo del ensayo. Las condiciones climáticas a lo largo del mismo fueron: temperatura media de 24.8 °C (máxima de 35.5 °C y mínima de 19.7 °C), humedad relativa media de 62.4% (máxima de 80.5% y mínima de 30.3%) y fotoperiodo natural del mes de julio (luz solar), con unas 14 horas de luz y 10 de oscuridad.

En cada jaulón se introducía un plantón de clementino en maceta (Figura 6, pag. 220). En la tierra de dicha maceta se enterraban pupas de mosca de la fruta, de 3-4 días de edad. Para ello, las pupas se colocaban en una base de placa Petri y se cubrían con turba; posteriormente la placa Petri se enterraba en la tierra de la maceta, de forma que quedaba a nivel del suelo de la maceta y las pupas eran fácilmente recuperables con posterioridad. Se colocaban dos placas en cada maceta, con un total de 150 pupas de *C. capitata* por jaulón (Figura 7, pag. 220).

Posteriormente se introducían 25 parejas del parasitoide en el jaulón, de manera que se podía determinar si las hembras eran capaces de localizar y parasitar dichas pupas. A estos adultos se les suministraba agua y miel durante el ensayo (Figura 7). El ensayo duraba 4 días; tras este periodo de tiempo, se recuperaban las placas Petri con las pupas y se llevaban a laboratorio; se separaban de la turba y se colocaban en botes de plástico para facilitar su ulterior desarrollo y la emergencia final de un adulto de mosca o de parasitoide. Se llevó a cabo un total de 3 tandas de ensayos (en 3 semanas diferentes), con 4 repeticiones cada una, que se correspondían con los 4 jaulones de la cabina del invernadero.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la prueba previa sobre la generación de parasitoidismo por parte de *S. cameroni*, al encontrarse con pupas enterradas de *C. capitata* en laboratorio, se comprobó la existencia de actividad parasitaria por parte de las diez parejas estudiadas, que generaron una fertilidad media de 5.5 adultos del parasitoide por hembra (con un máximo de 11 adultos y un mínimo de 1 adulto). Esto nos confirmó la capacidad de este parasitoide en localizar y parasitar pupas enterradas de mosca de la fruta, en las condiciones de laboratorio.

El ensayo efectuado en invernadero corroboró esta habilidad de *S. cameroni* en parasitar pupas enterradas de mosca, pero ahora además en una situación más cercana a la de campo y que exigía en las hembras del parasitoide la capacidad de detección de las pupas en un espacio mayor. En todos los casos estudiados se obtuvo parasitoidismo, es decir, en las 3 tandas de ensayos y en las 4 repeticiones de cada tanda.

Texto sigue en pag 222 ▶



Figura 1. Prepupa (izquierda) y pupa (derecha) de *S. cameroni* en el interior del pupario de *C. capitata*, que ha sido abierto para observación.



Figura 2. Adultos de *S. cameroni*: macho (izquierda) y hembra (derecha).



Figura 3. Pupas de *C. capitata*: ofrecidas directamente al parasitoide (arriba), o bien enterradas en base de placa Petri (abajo), para el ensayo previo en laboratorio.



Figura 4. Cámara SANYO utilizada en el ensayo previo de laboratorio.




Figura 5. Cabina del invernadero de cristal, con los 4 jaulones usados en el ensayo.



Figura 6. Plantón de clementino en el interior del jaulón.



Figura 7. Detalle del aporte de agua y miel, junto al plantón de clementino (arriba) y detalle de las placas Petri con pupas de mosca, enterradas en el suelo del plantón.





VIVEROS SEVILLA

Cítricos + Olivos + Ornamentales

CENTRAL
Ctra. Sevilla-Toscina (A-6305) Km. 11, 399
41310 BRENES (Sevilla)
Tel. 95 565 59 20 - Fax 95 565 59 11

CENTRO HUELVA
Ctra. N. Cartaya-Lepe Km. 113
21440 LEPE (Huelva)
Tel. y Fax 959 393 820

CENTRO VALENCIA
Ctra. Gandia, Km. 19
46600 ALZIRA (Valencia)
Tel. 96 245 57 85

www.viverossevilla.com

En la Tabla 1 se indican los resultados obtenidos sobre la acción de *S. cameroni* frente a las pupas de *C. capitata*, para cada tanda de ensayos. Tras confirmar la normalidad de los valores obtenidos, se efectuó un análisis de varianza con los datos de fertilidad de las 3 tandas de ensayos y se compararon las medias con el test de mínima diferencia significativa de Fisher, que evidenció que no había diferencias significativas entre ellas. Si obtenemos una media global de fertilidad de las 3 tandas, vemos que es de 22'7 adultos emergidos por jaulón, lo que equivale a una tasa media de parasitoidismo de 15'1%.

También se determinó la emergencia de adultos de mosca de las pupas ofrecidas y, por supuesto, las pupas que quedaban cerradas y no daban lugar a adultos de mosca ni de parasitoide. Y aunque no se utilizó un control para determinar la posible mortalidad natural de esas pupas enterradas, sin acción de los parasitoides, cabe considerar que dicha mortalidad natural fue mínima, al tener en el ensayo pupas de varios días de edad que, de no mediar algún factor determinante, deberían tener una viabilidad cercana al 100%, como ya se comprobó por parte de Pérez-Hinarejos y Beitia (2008). Por lo tanto, casi la totalidad de la mortalidad de las pupas puede atribuirse, con seguridad, a la acción de los parasitoides, obteniéndose una mortalidad media, para las 3 tandas y las 4 repeticiones, del 12'3%. Lo cual nos lleva a una reducción global de la emergencia de moscas, debido a la acción del parasitoide sobre las pupas, cercana al 30%, con las condiciones de este ensayo. Estos datos son similares a los indicados por Pérez-Hinarejos y Beitia (2008), trabajando con parejas aisladas de *S. cameroni* en un ensayo en laboratorio.

Tabla 1. Resultados obtenidos sobre la acción de *S. cameroni* frente a pupas enterradas de *C. capitata*.

Tanda	Fertilidad	% Parasitoidismo	Pupas cerradas	% pupas cerradas
1	25'2±6,0	16,8±4,0	18,2±2,9	12,2±1,9
2	24,7±2,1	16,5±1,4	19,0±6,1	12,7±4,1
3	18,0±1,6	12,0±1,1	18,2±2,9	12,1±1,9

Los datos mostrados representan el valor medio de las 4 repeticiones de cada tanda.

Es decir, se confirma que *S. cameroni* es capaz de detectar y parasitar pupas de *C. capitata* enterradas en el suelo, como se pueden encontrar de forma natural en una parcela afectada por la plaga. Ello invita a pensar en la posibilidad real de utilización de esta especie de parasitoide como agente de control biológico de esta plaga, aunque aún deben realizarse más ensayos, incluyendo algunos en parcelas experimentales, que nos indiquen cual puede ser la efectividad real que puede presentar este parasitoide frente a poblaciones de *C. capitata* y, principalmente, que permitan determinar la viabilidad del empleo de una suelta inundativa, como un método válido de control biológico de la plaga con este parasitoide.

AGRADECIMIENTOS

A Amparo Duato, M^a José Camaró y Azucena Gallardo, por su participación en el mantenimiento de la cría de laboratorio de los insectos, *C. capitata* y *S. cameroni*.

BIBLIOGRAFÍA

- Beitia F., Pérez-Hinarejos M., Santiago S., Garzón E., Tarazona I., Malagón J., Falcó J.V. 2006. Expectativas en el control biológico de *Ceratitis capitata*: parasitoides exóticos y autóctonos. *Levante Agrícola*, 379:60-66.
- Beitia F., Pérez-Hinarejos M., Garzón E., Santiago S., Tarazona I., Malagón J., Tormos J., Falcó J.V. 2007. Himenópteros parasitoides autóctonos. Lucha biológica contra *Ceratitis capitata*. *Terralia*, 63:34-44.
- Beitia F., Alonso M., Asís J.D., Gayubo S.F., Tormos J. 2010. Nuevo método de cría de *Spalangia cameroni* (Hymenoptera, Pteromalidae), calcidoideo de uso potencial en el control biológico de *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). *Terralia*, 78:36-40.

- Beitia F., Ferrara F.A., Harbi A., de Pedro L., Tormos J., Sabater-Muñoz B. 2014. Avances en el control biológico de la mosca de la fruta. *Vida Rural*, 379:34-39.
- Böckmann, E.; Tormos, J.; Beitia, F.; K. Fisher. 2012. Offspring production and self-superparasitism in the solitary ectoparasitoid *Spalangia cameroni* (Hymenoptera: Pteromalidae) in relation to host abundance. *Bulletin of Entomological Research*, 102(2): 1-7.
- de Pedro L., Martínez R., Harbi A., Ferrara F., Tormos J., Asís J.D., Sabater-Muñoz B., Beitia F. 2013. Un nuevo enemigo natural de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae) identificado en la Comunidad Valenciana: el parasitoide *Aganaspis daci* (Hymenoptera, Figitidae). *Levante Agrícola*, 416: 153-157.
- Falcó J.V., Garzón-Luque E., Pérez-Hinarejos M., Tarazona I., Malagón J., Beitia F. 2006. Two native pupal parasitoids of *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae) found in Spain. *IOBC/WPRS Bulletin*, 29(3):71-74.
- Pérez-Hinarejos, M.; Beitia, F. 2008. Parasitism of *Spalangia cameroni* (Hymenoptera, Pteromalidae), an idiobiont parasitoid on pupae of *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae). *IOBC/WPRS Bulletin*, 38:130-133.
- Tormos, J.; Beitia, F.; Alonso, M.; Asís, J.D.; Gayubo, S. 2010. Assessment of *Ceratitis capitata* (Diptera, Tephritidae) pupae killed by heat or cold as hosts for rearing *Spalangia cameroni* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Annals of Applied Biology*, 156(2): 179-185.
- Tormos, J.; Asís, J.D.; Sabater-Muñoz, B.; Baños, L.; Gayubo, S.F.; Beitia, F. 2012. Superparasitism in laboratory rearing of *Spalangia cameroni* (Hymenoptera: Pteromalidae), a parasitoid of medfly (Diptera: Tephritidae). *Bulletin of Entomological Research*, 102(1): 51-61.
- Tormos J., Sabater-Muñoz B., Asís J.D., Beitia F. 2014. Validation of a methodology for rearing *Spalangia cameroni* (Hymenoptera: Pteromalidae) on *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). *The Canadian Entomologist* (en prensa).